

## **Efeitos do óleo de *Copaifera sp.* sobre controle glicêmico e função renal de ratos com diabetes induzido por estreptozotocina**

Daniel Leite de Sousa (aluno de Iniciação Científica); Waldilleny Ribeiro de Araújo Moura (colaborador, Depto de Veterinária); Sidney Gonçalo de Lima (colaborador, Depto de Química); Maria do Carmo de Carvalho e Martins (orientador, Depto de Biofísica e Fisiologia - CCS)

**Introdução:** O diabetes melito (DM) é uma síndrome que, quanto à etiologia e patogênese, pode ser caracterizada por alterar a homeostase do organismo através de distúrbios metabólicos complexos e primários dos carboidratos, que envolvem secundariamente, porém de forma importante, lipídeos e proteínas (NEGRI, 2005). A *American Diabetes Association* (ADA, 2009) define o DM como um grupo de doenças metabólicas, com etiologias diversas, caracterizado por hiperglicemia que resulta de uma deficiente secreção de insulina pelas células  $\beta$  pancreáticas, resistência periférica à ação da insulina, ou ambas. A hiperglicemia crônica do diabetes freqüentemente está associada com dano, disfunção e insuficiência de vários órgãos, principalmente olhos, rins, coração e vasos sanguíneos. Diversos estudos têm confirmado os benefícios das plantas medicinais com efeito hipoglicemiante no controle do DM. Os efeitos dessas plantas podem atrasar o desenvolvimento de complicações diabéticas e corrigir anormalidades metabólicas (ZARI, 2009). A grande diversidade de classes químicas encontrada nessas plantas indica que uma variedade de mecanismos de ação deve estar envolvida na redução do nível de glicose no sangue (NEGRI, 2005). Como exemplo de planta aromática que vem despertando o interesse dos pesquisadores, visto o seu uso bastante disseminado na medicina popular brasileira, têm-se as plantas do gênero *Copaifera* (Leguminosae – Caesalpinioideae), popularmente conhecidas como “copaíba”, “copaibeiras” ou “pau d’óleo”. O óleo-resina (bálsamo de copaíba), obtido através de pequenos cortes na casca do caule desta planta, é utilizado na medicina popular como cicatrizante, antiinflamatório, anti-séptico, antitumoral e como agente para tratar bronquites, úlceras e doenças de pele (VEIGA et al., 2002). Estudos farmacológicos com algumas espécies de *Copaifera* demonstraram atividade antiinflamatória (BASILE et al., 1988) (FERNANDES et al., 1992) (VEIGA JUNIOR et al., 2007), antioxidante (PAIVA et al., 2004) e antitumoral (OHSAKI et al., 1994) (LIMA et al., 2003). A multiplicidade de propriedades farmacológicas atribuída ao óleo de *Copaifera sp.* demonstra a relevância da investigação de sua atividade em outros modelos experimentais promissores. A pesquisa dos efeitos deste óleo sobre o controle glicêmico e a função renal de ratos diabéticos representa uma ferramenta na busca de alternativas terapêuticas para o controle do DM. O presente trabalho foi desenvolvido com o intuito de avaliar os efeitos do tratamento com o óleo-resina (bruto) extraído de *Copaifera sp.* sobre o controle glicêmico e a função renal de ratos diabéticos. A fim de se atingir esse objetivo foi avaliado as glicemias de jejum durante o tratamento, além dos níveis de frutossamina, hemoglobina glicada, uréia, ceatinina e ácido úrico, assim como o volume de diurese e água ingerida e o peso dos animais e da ração consumida.

**Metodologia:** O óleo-resina de *Copaifera sp.* utilizado no tratamento dos animais foi fornecido pelo Prof. Dr. Sidney Lima (Departamento de Química – UFPI). O óleo foi coletado em uma comunidade quilombola do interior do Piauí e obtido através da perfuração do caule de espécie ainda não-identificada de *Copaifera sp.* Foram utilizando 32 ratos machos Wistar (230 a 250g) do Biotério do Centro de Ciências Agrárias da UFPI, mantidos em fotoperíodo de 12h luz – 12h escuro, em

ambiente com temperatura de  $24\pm 2^{\circ}\text{C}$ , alimentados com ração padrão para roedores e água *ad libitum*. Foram estudados os seguintes grupos: (CD) controle diabético (veículo- tween 1%, em água destilada, 5mL/kg p.o) com 9 animais; (C200) diabético tratados com óleo de copaíba 200mg/kg em veículo p.o. com 9 animais; (C400) diabéticos tratados com óleo de copaíba 400mg/kg em veículo p.o. com 7 animais; e (CN) não diabético como controle normal (veículo- tween 1% em água destilada, 5mL/kg p.o.) com 7 animais. Todos os grupos tem um total de 7 animais no mínimo por grupo. Os ratos foram colocados em gaiolas metabólicas individuais, onde permaneceram em adaptação durante 10 dias. Após jejum alimentar de 12 horas, com água *ad libitum*, o diabetes foi induzido pela administração endovenosa de STZ (40 mg/kg, Sigma Chemical, USA), dissolvida em tampão citrato 10 mM e pH 4,5. Os animais do grupo controle receberam tampão citrato 10 mM e pH 4,5 i.v. (MACHADO et al,2000) (LERCO et al, 2003). Decorridos 30 minutos da indução, os animais foram alimentados normalmente. No quinto dia após indução, a confirmação do DM foi realizada por meio da determinação da glicemia de jejum utilizando tiras reagentes accue chek. Foram considerados diabéticos somente animais apresentando glicemia maior ou igual a 250 mg/dL (LERCO et al, 2003). O tratamento foi iniciado no quinto dia após a injeção de STZ, imediatamente após confirmação do diabetes, e foi realizado diariamente, até completar um período total de 4 semanas (28 dias) de experimento. Durante o experimento, o peso corporal, a ingestão de ração e água, e o volume urinário foram avaliados a cada três dias durante 28 dias após indução do diabetes, e a glicemia a cada 7 dias, sendo feito uma média. Ao final do experimento, foram determinados o percentual de hemoglobina glicada, e os níveis séricos de frutossamina, creatinina, uréia e ácido úrico. Todas as dosagens foram realizadas utilizando *kits* reagentes da Labtest Diagnóstica S.A.<sup>®</sup>, conforme especificações do fabricante, e espectrofotômetro devidamente calibrado para determinação da absorbância dos analitos. Ao término do período experimental, os animais de todos os grupos foram eutanasiados por administração de doses excessivas de tiopental sódico (100 mg/kg) por via intraperitoneal (MASSONE, 2003), realizando-se coleta de 5 mL de sangue por punção na veia cava caudal para dosagens bioquímicas. Os dados foram representados como média e erro padrão da média (EPM). A análise estatística foi realizada mediante aplicação do teste t pareado para comparar as diferenças dentro dos grupos, e ANOVA seguida de pós-teste de Tukey para comparação entre grupos. O nível de significância estabelecido foi de  $p < 0,05$ . O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal do Piauí (parecer 58/2010).

**Resultados e Discussão:** Houve um aumento significativo ( $p > 0,05$ ) dos níveis séricos de glicemia nos grupos CD, C200 e C400 depois da indução em relação ao período que a antecede, evento que não ocorreu com o grupo CN. Após os 28 dias de tratamento, observou-se que a glicemia dos grupos CD e C200 foram significativamente maiores ( $p < 0,05$ ) que a do grupo CN. Não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) em relação à glicemia após tratamento entre os grupos C400 e CN, além disso, o grupo C400 foi significativamente menor ( $p < 0,05$ ) que o grupo C200. O percentual de hemoglobina glicada do grupo CD e dos grupos C200 e C400 foram significativamente ( $p < 0,05$ ) maiores que o grupo CN. Os níveis séricos de frutossamina do grupo CD e do grupo C200 foram significativamente ( $p < 0,05$ ) maiores que a do grupo CN. O grupo C400 apresentou níveis de frutossamina significativamente ( $p < 0,05$ ) menor que o grupo CD e que o grupo C200. A análise dos valores da

média de peso corporal, após os 28 dias de tratamento, dos grupos CD, C200 e C400 foram significativamente ( $p < 0,05$ ) menores que a do grupo controle normal. O peso renal corrigido, após os 28 dias de tratamento, dos grupos CD, C200 e C400 foram significativamente ( $p < 0,05$ ) maiores que a do grupo CN. Os níveis séricos de creatinina dos quatro grupos não apresentaram diferença significativa ( $p > 0,05$ ). Após os 28 dias de tratamento, houve um aumento significativo do ácido úrico no grupo CD em relação ao grupo CN, no entanto não houve diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) do grupo C200 em relação ao grupo CN e em relação ao grupo CD, o mesmo ocorrendo com grupo C400. Observou-se um aumento significativo ( $p < 0,05$ ) da ureia do grupo (CD) e do grupo C200 em relação ao grupo CN, fato que não ocorreu com o grupo C400. Houve um aumento significativo ( $p < 0,05$ ) da diurese e da ingestão hídrica do grupo CD e dos grupos C200 e C400 em relação ao CN. Houve um aumento significativo ( $p < 0,05$ ) da ração consumida pelo grupo CD, C200 e C400 em relação ao grupo CN.

**Conclusão:** O óleo-resina de *Copaifera sp.* na dose de 400mg/kg em veículo p.o. reduziu a glicemia de animais diabéticos, e resultou em alterações isoladas em parâmetros relacionados à função metabólica e renal no diabetes experimental. **Apoio:** UFPI

#### **Referências Bibliográficas:**

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION (ADA). Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus (Position Statement). **Diabetes Care**, n. 32 (suppl 1), S62-S67, 2009.

BASILE, A. C. et al. Anti-inflammatory activity of oleoresin from Brazilian *Copaifera*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 22, n. 1, p. 101–109, 1988.

LERCO, M. M.; SPADELLA, C. T.; MACHADO, J. L. M.; SCHELLINI, S. A.; PADOVANI, C. R. Caracterização de um modelo experimental de diabetes mellitus induzido pela aloxana em ratos. Estudo clínico e laboratorial. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 18, n. 2, p. 132-142, 2003.

LIMA, S. R. M. et al. In vivo and in vitro studies on the anticancer activity of *Copaifera multijuga* Hayne and its fractions. **Phytotherapy Research**, v. 17, n. 9, p. 1048-1053, 2003.

MASSONE, F. **Anestesiologia veterinária: farmacologia e técnicas**. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1994. 252 p.

NEGRI, G. Diabetes melito: plantas e princípios ativos naturais hipoglicemiantes. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 41, n. 2, p.121-142, 2005.

OHSAKI, A., et al. The isolation and in vivo potent antitumour activity of clerodane diterpenoid from the oleoresin of the brazilian medicinal plant, *Copaifera langsdorffii* Desfon. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 4, p. 2889–2892, 1994.

VEIGA JÚNIOR, V. F.; PINTO, A. C. O Gênero *Copaifera* L. **Química Nova**, Rio de Janeiro, v. 25, n.2, p. 273-286. 2002.

ZARI, T. A.; AL-LOGMANI, A. S. Long-term effects of *Cinnamomum zeylanicum* Blume oil on some physiological parameters in streptozotocin-diabetic and non-diabetic rats. **Bol. Latinoam. Caribe Plant. Med. Aromat.**, v. 8, n. 4, p. 266 – 274, 2009.

**Palavras-Chave:** Diabetes, Copaiba, Óleo, glicemia, função Renal